© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Genetische Verarmung des Alpenmurmeltieres (*Marmota m. marmota*) in Österreich: Befunde aus Isoenzymanalysen

M. PRELEUTHNER & W. PINSKER

Abstract

Samples from 13 populations of the Alpine Marmot *Marmota m. marmota* (LINNAEUS, 1758) from the Eastern Alps were studied electrophoretically for allozyme variation. The amount of variation was remarkably low. Only 2 out of 50 enzyme loci were polymorphic, the average heterozygosity measured 1,1%. Although a total of more than 6000 genes have been examined, no rare alleles were detected. Compared to the marmot species M. *monax* and M. *flaviventris* as well as other mammals the genetic variation of the Alpine marmot is clearly reduced. The geographic pattern of allele frequencies at the two polymorphic loci Pep-1 and Sod-1 does not show a uniform trend. The locus Pep-1 is polymorphic in all populations investigated, but at the Sod-1 locus there is a decrease of variability towards the east that finally leads to fixation of the F-allele. Whereas the generally lower variability has probably been caused by population crashes in the more distant past (perhaps at the end of the last glaciation), the loss of variation at the Sod-1 locus may be the result of founder effects in the course of reintroductions.

Stapfia 63,
zugleich Kataloge des OÖ. Landesmuseums,
Neue Folge Nr. 146 (1999), 129-138

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Einleitung

Genetische Variation

Genetische Vielfalt (Variation) beruht auf Unterschieden in der Erbinformation (DNA). Diese Unterschiede treten einerseits zwischen einzelnen Individuen einer Population auf, andererseits auch zwischen Populationen als Folge von genetischen Differenzierungsprozessen. Quelle der Variation sind Mutationen, d. h. minimale Veränderungen im Erbgut, welche ständig zur Entstehung neuer genetischer Varianten (Allele) führen. Bei der Mehrzahl dieser neuen Allele handelt es sich um nachteilige Defektgene, welche durch die natürliche Selektion wieder eliminiert oder zumindest auf einem sehr niedrigen Häufigkeitsniveau gehalten werden (genetische Bürde). Es entstehen aber auch Allele, welche in ihrer Auswirkung auf die Überlebens- und Fortpflanzungsfähigkeit zumindest nicht nachteilig (selektiv neutrale Allele) oder sogar vorteilhaft sind. Diese Allele können über Generationen hinweg akkumulieren und zur phänotypischen Vielfalt der Individuen beitragen. Die Speicherung dieser Variation als genetische Reserve der Population bzw. Art ist wichtig in Hinblick auf die Anpassungsfähigkeit in einer sich verändernden Umwelt. Ist eine Population oder Art mit neuen Herausforderungen an ihre Überlebensfähigkeit konfrontiert (z. B. Klimaänderung, Zerstörung von Lebensräumen, neue Krankheitserreger), so kann sie auf der Basis ihres Genreservoirs darauf reagieren. Dabei werden unter den koexistierenden Erbvarianten auch solche vorhanden sein, die aufgrund ihrer etwas anderen genetischen Ausstattung mit den neuen Bedingungen besser zu Rande kommen und daher überleben können. Ein ausreichendes Genreservoir ist also für die Erhaltung einer Art unabdingbar, der Verlust von Variation hingegen bedeutet Einschränkung des Reaktionspotentials und kann letztendlich zum Aussterben führen.

Aussetzungen und ihre genetischen Folgen

Die historischen Ereignisse, die zum rezenten ostalpinen Verbreitungsmuster führten, sowie die spezifische Sozialstruktur (vgl. ARNOLD 1990b) des Alpenmurmeltieres deuten auf die Möglichkeit einer Verringerung der genetischen Variation hin. In Österreich finden sich autochthone Murmeltiervorkommen nur westlich von Sill und Eisack (Wipptal). Dennoch hat das Murmeltier infolge intensiver Wiedereinbürgerungsbemühungen in den letzten 150 Jahren mehr oder weniger alle größeren Gebirgsstöcke Österreichs erobert (PRELEUTHNER 1993). Die dabei verwendete Aussetzungsstrategie kann auf genetischer Ebene weitreichende Konsequenzen haben:

Jede Neubegründung von Populationen mit nur einigen wenigen Individuen ist mit einem Verlust an genetischer Variabilität verbunden, da die Gründerindividuen nur einen Ausschnitt der ursprünglichen genetischen Vielfalt der Ausgangspopulation mitnehmen (Gründer- oder „Founder"-Effekt). Die neubegründete Population muß daher zwangsläufig einen genetischen Flaschenhals („genetic bottle-neck") passieren, infolge dessen die Variation drastisch reduziert wird (Abb. 1).

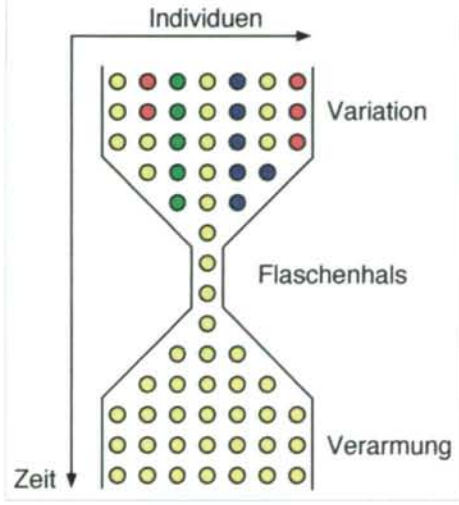


Abb. 1: Flaschenhalseffekt. Durch einen drastischen Einbruch der Populationsgröße wird die ursprünglich vorhandene Variation (bunte Kreise) reduziert. Auch nachdem die Population wieder auf die ursprüngliche Größe angewachsen ist, bleibt sie genetisch verarmt (gelbe Kreise).

Nach theoretischen Berechnungen bewirkt das Durchlaufen eines einmaligen Flaschenhalses mit einer effektiven Populationsgröße (= Zahl der an der Fortpflanzung beteiligten Individuen einer Population) von 7 Individuen einen Verlust von 5 Prozent der Variation (O'BRIEN et al. 1986), bei geringe-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

ren Individuenzahlen steigt dieser Wert drastisch an. Im Falle der Murmeltieraussetzungen wurde diese Zahl jedoch in vielen Fällen deutlich unterschritten (siehe Abb. 2), wobei auch zu bedenken ist, daß aufgrund der Sozialstruktur nicht alle ausgesetzten Individuen auch zur Fortpflanzung beitragen. Die effektive Populationsgröße lag daher meist unter dem Durchschnittswert von 5 ausgesetzten Individuen.

Eine weitere Reduktion ihrer genetischen Vielfalt erfahren Founderpopulationen dadurch, daß die Individuenzahlen noch über viele Generationen gering bleiben. In kleinen Populationen kommt es zur Veränderung der Variation durch das Phänomen der genetischen Drift. Dabei unterliegen die Allelhäufigkeiten starken Zufallsschwankungen, die schließlich zur Fixierung (Erreichen einer Häufigkeit von 100 %) einzelner Allele und somit zum Verlust der Variation führen. Überwiegt der Drifteffekt die Wirkung der Selektion, so können sogar nachteilige Allele zur Fixierung gelangen.

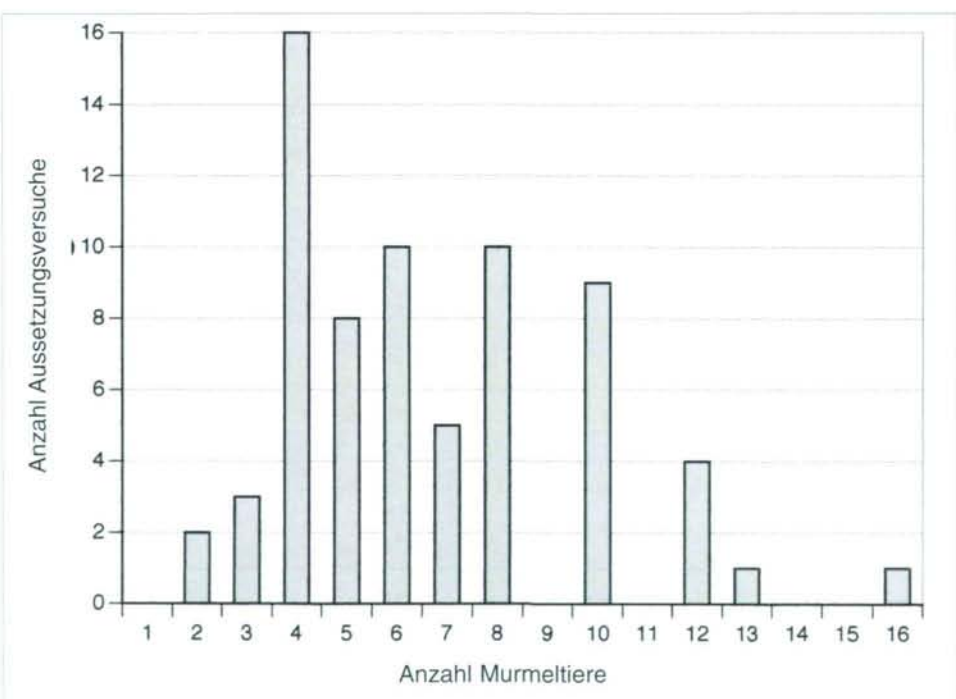


Abb. 2: Anzahl der Founder-Individuen pro Aussetzung. Die Säulen geben die Häufigkeit von Aussetzungen mit einer bestimmten Individuenzahl wieder. Der Medianwert beträgt 5 Individuen pro Aussetzungsversuch.

In den ersten Generationen kommt es in den kleinen Populationen zu starker Inzucht, die durch die Sozialstruktur des Alpenmurmeltieres zusätzlich gefördert wird.

Bei Organismen mit zusammenhängendem Verbreitungsgebiet kann der lokale Verlust von Variation durch Zuwanderung (Migration) von Individuen aus Nachbarpopulationen ausgeglichen werden. Im Falle der österreichischen Murmeltierpopulationen ist jedoch das Verbreitungsgebiet durch geographische Barrieren stark fragmentiert und somit der Genfluß zwischen den einzelnen Vorkommen zumindest stark eingeschränkt. Bei manchen Marginalpopulationen ist es fraglich, ob überhaupt noch eine Verbindung zu benachbarten Populationen besteht (z. B. Rax, Hochschwab oder Eisenerzer Alpen). Die durch Foundereffekt, Drift und Inzucht eingeleitete rasche genetische Differenzierung bleibt durch die reproduktive Isolation erhalten und wird durch unterschiedliche Selektionsbedingungen sowie weitere Zufallsdrift in den einzelnen Isolaten noch verstärkt.

Molekulare Analysemethoden zur Aufdeckung genetischer Variation

Das Ausmaß der genetischen Variabilität innerhalb und zwischen Populationen einer Art kann auf der Basis informativer Makromoleküle - Basensequenzen der DNA oder Aminosäuresequenzen der Proteine (Eiweiße) - untersucht werden. Während Analysen auf der DNA-Ebene einen direkten Nachweis von Unterschieden in der genetischen Information liefern, lassen sich diese Unterschiede in

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

den Proteinen, den primären DNA-Produkten, zumindest indirekt ableiten. Alle anderen chemischen Produkte, Strukturen und Aktivitäten der Organismen sind Ergebnis sekundärer Stoffwechselinteraktionen und lassen somit keine direkten Rückschlüsse auf die primäre genetische Information zu (FERGUSON 1980). Die genaueste und direkteste Methode für die Analyse genetischer Variation ist zweifellos die DNA-Sequenzanalyse (SANGER et al. 1977) ausgewählter Gene von einer größeren Anzahl verschiedener Individuen. Dabei wird die lineare Abfolge der einzelnen Bausteine (Basen) in einem bestimmten Gen in mehreren Individuen analysiert und die Zahl der Unterschiede festgestellt. Vom Kostenaufwand her ist diese Methode jedoch für ausgedehntere Populationsanalysen, wo viele Individuen aus jeweils mehreren Populationen untersucht werden sollen, nicht geeignet.

Aus diesem Grund werden in der Populationsgenetik häufig Methoden verwendet, bei denen nicht die gesamte Sequenz eines Gens untersucht wird, sondern nur die Unterschiede zwischen den Sequenzen, auch wenn dadurch nur ein Teil der gesamten Variation aufgedeckt werden kann. Dabei können sowohl Methoden auf der Proteinebene (Enzymelektrophorese) als auch auf DNA-Ebene (Fragmentlängenvariation) zur Anwendung kommen (siehe auch die Beiträge „Das Alpenmurmeltier, eine genetisch verarmte Tierart?" und „Genetische Differenzierung der Populationen des Alpenmurmeltieres").

Elektrophoreseuntersuchungen von Enzymproteinen wurden bereits Anfang der 1970er Jahre weltweit in großem Maßstab durchgeführt und ermöglichten erstmals eine quantitative Abschätzung der genetischen Variation sowie des Differenzierungsgrades der taxonomischen Kategorien unterhalb des Gattungsniveaus. Da die Enzymelektrophorese vom Materialaufwand äußerst kostengünstig ist und keinen großen apparativen Aufwand erfordert, zählt sie noch immer zu den Standardmethoden der Populationsgenetik. Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus der zwischenartlichen Vergleichbarkeit der Daten, da praktisch für alle Organismen die gleichen Standardenzyme als Marker Verwendung finden. So ist es beispielsweise möglich, das Ausmaß der genetischen Variation in allen untersuchten Säugetierarten auf der Basis von Enzymdaten zu vergleichen, auch wenn diese den Arbeiten vieler verschiedener Autoren entnommen sind (z. B. NEVO 1978).

Untersuchungen auf der DNA-Ebene haben den Vorteil, daß DNA um vieles stabiler als Enzymproteine ist und daher über einen unvergleichlich größeren Zeitraum konserviert werden kann. Da die DNA-Information in allen Zellen desselben Individuums gleich ist, spielt die Art der Probe (Blut, Organe, Haut, Haare) keine Rolle und die Analyse wird nicht durch unterschiedliche Genexpression (z. B. gewebs- oder altersspezifische Genaktivität) beeinflußt. Außerdem kann die zur Untersuchung benötigte DNA aufgrund ihrer Fähigkeit zur Selbstreplikation mittels der PCR-Methode aus kleinsten Gewebemengen extrahiert werden. Dies ist besonders für bedrohte Arten von Bedeutung, die durch das Sammeln von Material nicht in ihrem Bestand gefährdet werden sollen oder für die Untersuchung ausgestorbener Taxa anhand von Museumsmaterial (PÄÄBO 1989). Als Markersequenzen werden für populationsgenetische Analysen auf DNA-Ebene vor allem Sequenzen aus dem Genom der Mitochondrien sowie die hypervariablen Mikrosatelliten aus dem Kerngenom verwendet.

Das vorrangige Ziel dieser Arbeit war es, erste Einblicke in die genetische Konstitution des Alpenmurmeltieres zu gewinnen und die österreichischen Populationen auf eine mögliche geographische Differenzierung hin zu überprüfen. Für diese Fragestellung wurde als geeignete Methode die Stärkegel-Elektrophorese von Enzymproteinen (SGE) ausgewählt. Der Vorteil lag vor allem in der Möglichkeit, unter relativ geringem Kostenaufwand von einer sehr großen Anzahl von Individuen (566 Tiere aus insgesamt 13 Populationen) eine große Zahl von Genen (50 Enzymloci) zu erfassen.

Methodik

Bei der Stärkegel-Elektrophorese werden Enzymproteine unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes nach ihrer Ladung aufgetrennt und so unterschieden. Alle Proteine tragen

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

eine Gesamtladung, die durch die Aminosäuren-Zusammensetzung, den Bausteinen der Proteine, in Abhängigkeit vom pH-Wert des umgebenden Mediums entsteht. Durch Anlegen eines Spannungsfeldes im Trennmedium (Stärkegel) ist es möglich, die elektrophoretische Mobilität der Proteine zu bestimmen. Unterscheiden sich zwei Proteine durch Austausch einer oder mehrerer Aminosäuren als Folge von Mutationen, so kann dieser Unterschied zu einer Ladungsänderung und damit zu veränderten Wanderungseigenschaften im elektrischen Feld führen. Die Wanderungsgeschwindigkeit (elektrische Mobilität) ist dabei von Ladung und Größe des Moleküls abhängig (Abb. 3a).

Gewonnen werden die Proteine aus Gewebeextrakten oder (vor allem bei kleinen Organismen) Totalhomogenaten. Es wird daher zunächst ein Gemisch aller im Extrakt vorhandener Proteine aufgetrennt. Um hieraus ein bestimmtes Protein spezifisch sichtbar zu machen, bedient man sich der Substrat- und Wirkungsspezifität der aufgetrennten Enzymproteine. Dabei wird die enzymspezifische Substratreaktion in vitro (d. h. im Elektrophoresegel) durchgeführt und mit einer entsprechenden Färbereaktion chemisch gekoppelt. Da jede Aminosäurekette eines Proteins das Produkt eines Gens ist, kann man aus der Variation des Enzymbandenmusters auf die Variabilität der betreffenden Gene schließen (siehe Abb. 3b).

Zur Gewinnung von Gewebeextrakten wurden über mehrere Jahre hinweg Organproben (Leber, Niere, Herz und Muskel) von insgesamt 566 Murmeltieren aus 13 verschiedenen Herkunftsgebieten Österreichs gesammelt. Die drei westlichsten Populationen (Lechquellengebirge, Verwall- und Samnaungruppe) stellen autochthone Bestände dar, während die allochthonen (durch Aussetzung begründete) Populationen vom Zillertaler Hauptkamm bis zur östlichen Verbreitungsgrenze (Rax) verteilt sind. Die Proben wurden im Zuge des regulären, jährlich zwischen August und Oktober stattfindenden Murmeltierabschusses entnommen und bis zur weiteren Verarbeitung im Labor tiefgekühlt. Da in Testversuchen die Leberproben die besten Ergebnisse erbrachten, wurden diese

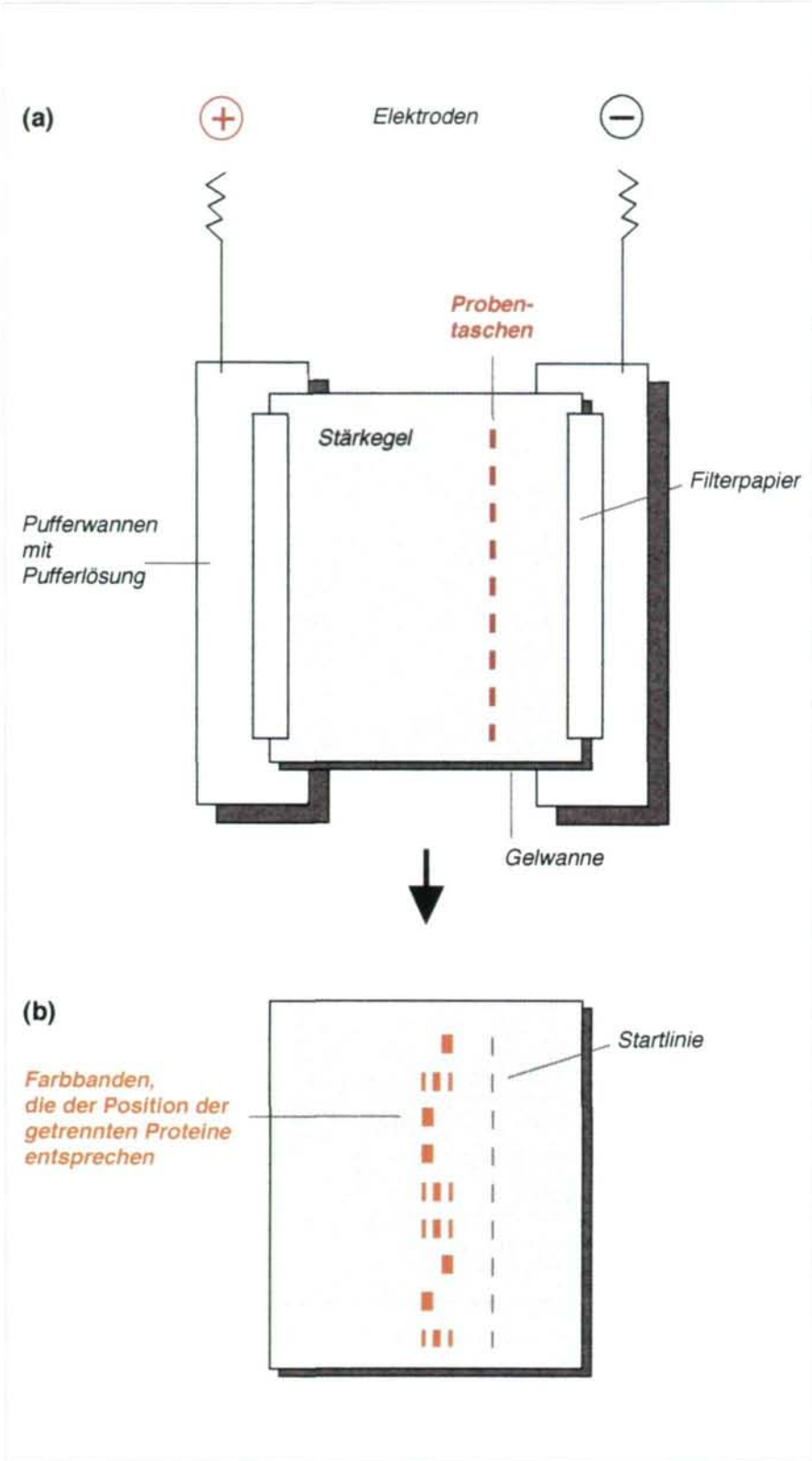
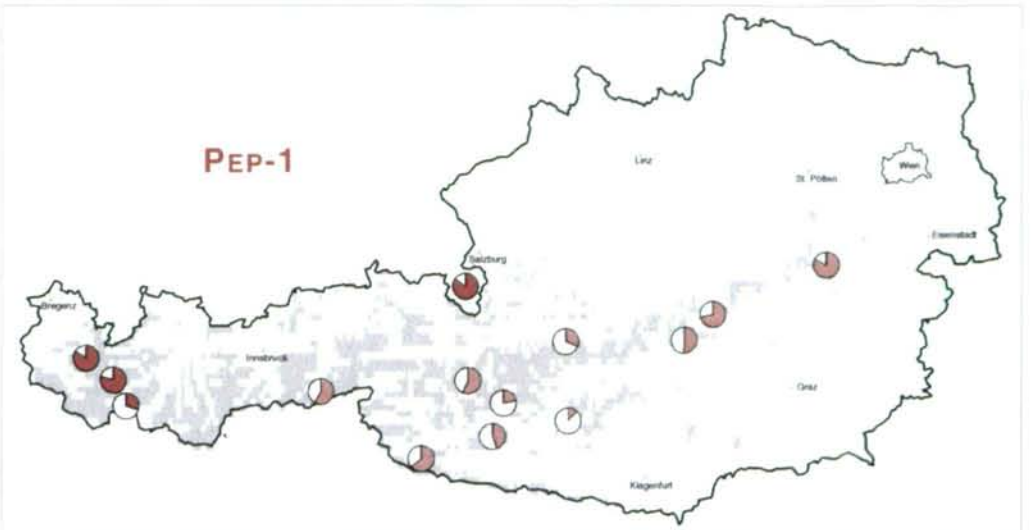


Abb. 3: Enzymelektrophorese. Die Auftrennung der Enzymproteine erfolgt im Stärkegel unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes. Das Material wird in den Probentaschen aufgetragen. Die Spannung wird an die Pufferlösungen in den Pufferwannen angelegt und über Filterpapier auf das Gel übertragen (a). Nach beendeter Elektrophorese wird das Gel in dünne Schichten geschnitten. Für jede Schicht kann ein spezifischer Enzymnachweis durchgeführt werden. Die Positionen der Enzyme sind nach der Färbung als Banden im Gel sichtbar (b).

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 4: Variation am Pep-1 Locus. Die Allelhäufigkeiten an den einzelnen Untersuchungsstandorten sind als Tortendiagramme dargestellt, wobei der weiße Sektor das Allel F, der farbige Sektor das Allel S bezeichnet. Die nichtautochthonen Populationen sind schraffiert. Die graue Hinterlegung markiert das rezente Verbreitungsgebiet. Die Vergleichsdaten der Population aus Berchtesgaden (Deutschland) stammen von Arnold (1990a).



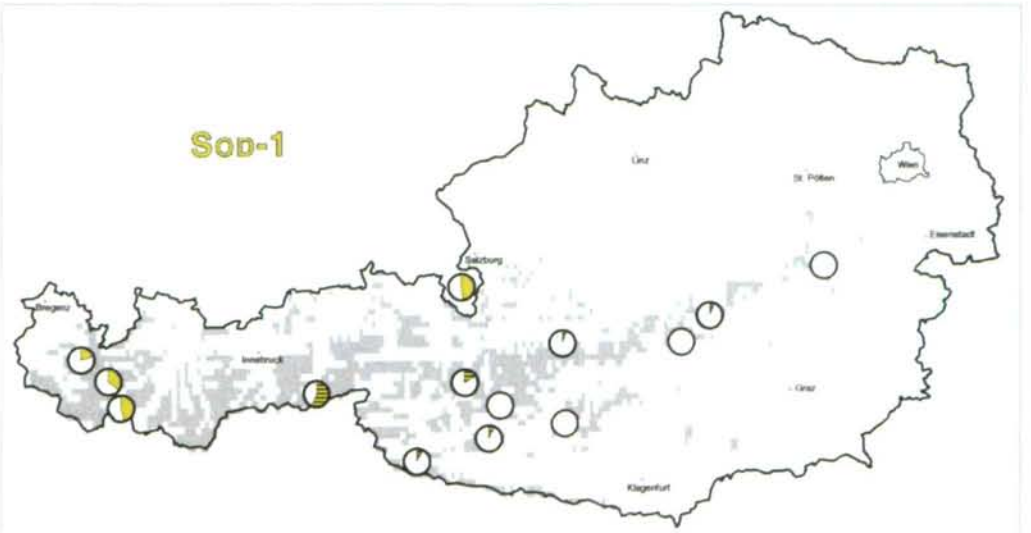


Abb. 5: Variation am Sod-1 Locus. Die Allelhäufigkeiten an den einzelnen Untersuchungsstandorten sind als Tortendiagramme dargestellt, wobei der weiße Sektor das Allel F, der farbige Sektor das Allel S bezeichnet. Die nichtautochthonen Populationen sind schraffiert. Die graue Hinterlegung markiert das rezente Verbreitungsgebiet. Die Vergleichsdaten der Population aus Berchtesgaden (Deutschland) stammen von Arnold (1990a).

für alle weiteren Analysen als Untersuchungsmaterial eingesetzt.

Ergebnisse und Diskussion

Verlust der Variation

Von insgesamt 50 untersuchten Genloci erwiesen sich 48 Enzymgene als monomorph, d. h. es wurde keine Variation in den elektrophoretischen Bandenmustern gefunden (Preleuthner & Pinsker 1993). Nur zwei Enzyme, Peptidase-1 und Superoxid-Dismutase-1, zeigten Variation. An beiden Loci (Pep-1 und Sod1) konnten jeweils zwei (mit den Buchstaben S und F bezeichnete) Allele unterschieden werden. Der Anteil variabler Loci (Polymorphiegrad) wird als Meßgröße für das Ausmaß der genetischen Variation verwendet. Im Fall des Alpenmurmeltieres beträgt der Polymorphiegrad also 4 Prozent, ein im Vergleich zu anderen Säugetierarten niedriger Wert. Für die Berechnung des Polymorphiegrades wird ein Locus dann als monomorph gewertet, wenn das häufigste Allel eine Häufigkeit von 99 Prozent übersteigt. Dies bedeutet, daß normalerweise auch an den als monomorph eingestuften Loci seltene Allele (Häufigkeit <1%) beobachtet werden können. Interessanterweise ist dies beim Alpenmurmeltier nicht der Fall, obwohl für die 48 monomorphen Loci eine Gesamtzahl von 6522 Genen getestet wurde. Auch bei den beiden polymorphen Loci Pep-1 und Sod-1 waren trotz der umfangreichen Gesamtstichprobe (n = 1800) keine seltenen Allele auffindbar.

Ein anderes Maß der genetischen Variation ist der durchschnittliche Heterozygotiegrad (H_e). Dieser berücksichtigt die Häufigkeiten der koexistierenden Allele und berechnet sich als der nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Heterozygotenanteil (heterozygot = mischerbig für 2 verschiedene Allele). Der über alle untersuchten Loci bestimmte Mittelwert bildet den durchschnittlichen Heterozygotiegrad. Für die ostalpinen Murmeltierpopulationen beträgt dieser Wert 1,1 Prozent, was verglichen mit anderen Säugern als sehr niedrig zu bewerten ist.

Infolge der geringen Gesamtvariation stehen für Vergleiche zwischen den Populationen nur die beiden polymorphen Loci Pep-1 und Sod-1 zur Verfügung. Betrachtet man das Verteilungsmuster der Allelhäufigkeiten an diesen beiden Loci, so sind erhebliche Divergenzen zwischen den einzelnen Populationen erkennbar. Der Pep-1 Locus erwies sich in allen Populationen als polymorph, wobei die Häufigkeit des F-Allels zwischen 14,4 Prozent und 87,5 Prozent variiert (Abb. 4). Im Gegensatz dazu dominiert am Sod-1 Locus in fast allen

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Populationen das F-Allel, wobei besonders hohe Häufigkeiten in den allochthonen (wiedereingebürgerten) Populationen zu finden sind. In vier dieser Populationen ist sogar eine Fixierung des F-Allels festzustellen (Abb. 5). Während also am Pep-1 Locus der Polymorphismus in allen Populationen ausgeprägt ist, nimmt die Variation am Sod-1 Locus nach Osten hin deutlich ab und geht in einigen der östlichen Populationen sogar gänzlich verloren.

Jüngst durchgeführte Untersuchungen (BRUNS et al., im Druck) von drei Murmeltierpopulationen aus Graubünden (Schweiz) zeigten, daß dort die Variation wesentlich höher ist als in den österreichischen Populationen (P = 16,7%, H_e = 3,4%; siehe den Beitrag „Das Alpenmurmeltier – eine genetisch verarmte Tierart?". Daraus kann geschlossen werden, daß der offensichtliche Mangel an genetischer Variabilität als ein Phänomen zu verstehen ist, das sich auf den ostalpinen Raum beschränken dürfte. Die Variation muß demnach irgendwann in der jüngeren Entstehungsgeschichte dieser Populationen eliminiert worden sein. Für die wiedereingebürgerten Populationen kommt dies nicht unerwartet. Hier haben Flaschenhalseffekte im Zuge der Aussetzungen zum Verlust der Variation geführt (Abb. 7). Wie aus der Rekonstruktion der Ausbreitungsgeschichte des Murmeltieres hervorgeht (PRELEUTHNER 1993), sind viele der Populationen im Osten durch Sekundäraussetzungen aus bereits wiedereingebürgerten Beständen begründet worden (siehe auch den Beitrag „Die rezente Verbreitung des Alpenmurmeltieres *Marmota M. Marmota* in Österreich und ihre historischen Hintergründe").

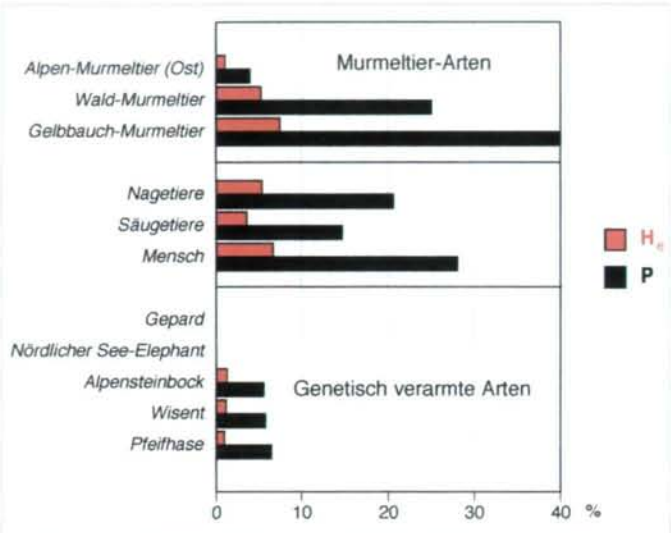


Abb. 6: Vergleich der genetischen Variation. Die beiden Kenngrößen Heterozygotiegrad (rot) und Polymorphiegrad (schwarz) sind aus Allozymdaten verschiedener Arten zusammengestellt. Unter den untersuchten Murmeltierarten zeigen die ostalpinen Murmeltierpopulationen die geringste Variation. Die Werte liegen auch klar unter dem für die Ordnung der Nagetiere bzw. die Klasse der Säugetiere angegebenen Durchschnitt. Die Variation der ostalpinen Murmeltierpopulationen entspricht der genetisch verarmter Arten (z. B. Alpensteinbock, Wisent, Pfeifhase).

Wie kam es zum Variationsverlust?

Das wohl überraschendste Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist die hochgradig reduzierte genetische Variation von *M. marmota* in Österreich (Polymorphiegrad P = 4%, H_e = 1,1%), die der genetisch verarmter Säugetierarten entspricht (Abb. 6). Stellt man diese Daten biochemisch-genetischen Befunden von nahe verwandten Arten der Gattung *Marmota* gegenüber (SCHWARZ & ARMITAGE 1980, WRIGHT et al. 1987), so zeigt sich bei letzteren eine zumindest durchschnittliche, für Säuger sogar hohe genetische Variation (Abb. 6): *M. monax* (P = 25%, H_e = 5,3%) und *M. flaviventris* (P = 40%, H_e = 7,5%). Diese Reduktion der genetischen Vielfalt des Alpenmurmeltieres betrifft nicht nur die durch Wiedereinbürgerung entstandenen Populationen, sondern auch die autochthonen Populationen aus Westösterreich. Eine frühere Analyse der autochthonen, aber isolierten Population im Nationalpark Berchtesgaden (ARNOLD 1990a) erbrachte ähnliche Ergebnisse (P = 4%, H_e = 1,5%).

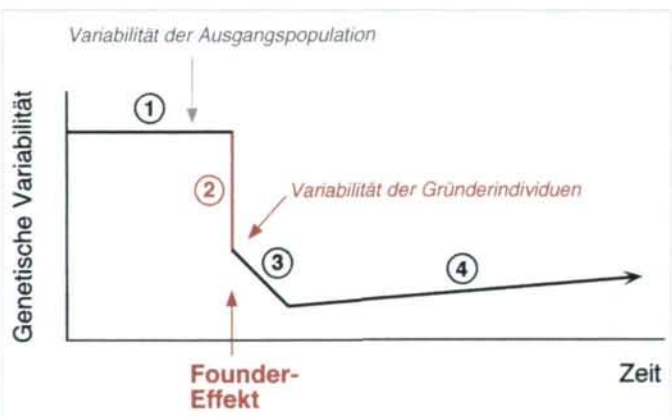


Abb. 7: Founder-Effekt. Bei der Neubegründung einer Population durch eine beschränkte Anzahl von Founder-Individuen wird nur ein Teil der in der Ausgangspopulation (1) vorhandenen genetischen Variation in die Founderpopulation (2) mitgenommen. In der Folge kommt es durch Drifteffekte in der anfangs noch kleinen Population zu weiterem Variationsverlust (3). Neue Variation entsteht nur sehr langsam durch die natürliche Mutationsrate (4).

Die den Aussetzungen folgenden genetischen Ereignisse (Foundereffekt und Zufallsdrift) wurden also gleich mehrere Male durch-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

laufen und haben das ohnehin schon stark verarmte genetische Reservoir weiterhin verkleinert. Die deutliche Tendenz zur Eliminierung des S-Allels am Sod-1 Locus in den wiedereingebürgerten Populationen nach Osten hin kann dafür als Beleg gelten. Im Gegensatz dazu ist der Polymorphismus am Pep-1 Locus in allen untersuchten Populationen erhalten geblieben. Es gibt Hinweise dafür, daß dieser Polymorphismus durch selektive Kräfte, z. B. balancierende Selektion durch Heterozygotenvorteil, gegen die Wirkung der genetischen Drift und trotz generelle genetischer Verarmung aufrecht erhalten wird (PRELEUTHNER et al. 1995).

In den autochthonen Populationen Westösterreichs hingegen kommt das durch Aussetzungen bedingte Flaschenhalsphänomen nicht als Ursache der reduzierten Variation in Betracht. Das Fehlen seltener Allele weist jedoch auch hier auf zumindest sehr starke Drifteffekte in der jüngeren Geschichte dieser Populationen hin. Diese können etwa durch permanent stattfindende Fluktuationen in der Populationsgröße und gelegentliche stärkere Einbrüche der Populationsgröße (z. B. durch erhöhte Mortalität während eines besonders kalten Winters) zustande gekommen sein. Man kann auch damit spekulieren, daß eine drastische Verringerung der Populationsgröße am Ende der letzten Eiszeit stattgefunden hat, als die von den Murmeltierbeständen besiedelten Lebensräume stark eingeengt wurden. Infolge des Klimaumschwungs wurden die einst in den Steppen Zentraleuropas weiträumig verbreiteten Murmeltiere in die alpinen Refugialgebiete der Gebirgssteppen zurückgedrängt (vgl. den Beitrag „Die rezente Verbreitung des Alpenmurmeltieres *Marmota m. marmota* in Österreich und ihre historischen Hintergründe"). Es kann auch vermutet werden, daß es in den Ostalpen infolge ihrer von den Westalpen deutlich verschiedenen Geomorphologie und Gesamterhebung zu wesentlich ausgeprägteren Engpässen in der Verfügbarkeit von Lebensraum im Zuge der Besiedelungsgeschichte dieser Art kam und sich diese Engpässe auf die genetische Konstitution der ostalpinen Populationen somit dramatischer ausgewirkt haben als in der heutigen Kernregion des Verbreitungsgebietes.

Was sind die Konsequenzen?

Wie diese Untersuchung zeigen konnte, ist in allen österreichischen Murmeltierpopulationen die genetische Variation deutlich reduziert. In den autochthonen Gebieten liegt die Ursache in natürlichen Gegebenheiten, die aus heutiger Sicht nur schwer zu rekonstruieren sind. Bei den Wiedereinbürgerungen wurde diese bereits geringe Variation durch Aussetzung weniger Individuen und Drifteffekte bei der anschließenden Ausbreitung möglicherweise weiter verringert. Bei künftigen Aussetzungen von Individuen dieser Tierart muß diesem Aspekt daher maßgeblich Rechnung getragen werden. Eine Entnahme von Tieren aus Herkunftsgebieten, die noch variable Populationen beherbergen, wie z. B. jene der schweizerischen Populationen, scheint daher nicht nur empfehlenswert, sondern fast zwingend, um das adaptive Potential dieser heimischen Tierart nicht gänzlich zu vernichten.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von der Hochschul-Jubiläuumsstiftung der Stadt Wien unterstützt. Der Zentralstelle der Österreichischen Landesjagdverbände sowie den einzelnen Landesjagdverbänden, Bezirksjägermeistern und Jagdausübenden sei für die freundliche Kooperation und für die Mithilfe bei der Beschaffung von Probenmaterial herzlich gedankt. Die Arbeit wurde am Institut für Wildbiologie und Jagdwirtschaft an der Universität für Bodenkultur Wien (Vorstand: Univ.-Prof. Dr. H. GOSSOW) durchgeführt und tatkräftig unterstützt. Weiterer Dank gebührt insbesondere den Familien ASCHBACHER, GASSNER, KRÖLL, RATTENSBERGER, STERNATH, WECHSELBERGER, ZANGERL und ZEILER für die engagierte Mithilfe bei den Freilandarbeiten sowie Dr. C. MILLER, Ing. R. HAFELLNER, M. GRINNER und Dr. H. ZEILER für hilfreiche technische Unterstützung im Labor.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Zusammenfassung

13 verschiedene österreichische Populationen des Alpenmurmeltieres *Marmota m. marmota* (LINNAEUS, 1758) wurden mittels Stärkegel-Elektrophorese untersucht und auf genetische Variabilität geprüft. Das Ausmaß der genetischen Variation erwies sich als auffallend gering. Nur 2 von insgesamt 50 getesteten Loci waren polymorph, der durchschnittliche Heterozygotiegrad betrug 1,1 Prozent. Trotz der umfangreichen Gesamtstichprobe von insgesamt mehr als 6000 untersuchten Genen konnten keinerlei seltene Allele gefunden werden. Verglichen mit den Murmeltierarten M. *monax* und M. *flaviventris* sowie anderen Säugetierarten erscheint die genetische Variation des Alpenmurmeltieres stark reduziert. Das geographische Verteilungsmuster der Allelhäufigkeiten an den beiden polymorphen Loci Pep-1 und Sod-1 zeigt ein unterschiedliches Bild. Der Pep-1 Locus erwies sich in allen untersuchten Populationen als polymorph, beim Sod-1 Locus hingegen ist nach Osten ein Verlust an Variabilität bis hin zur Fixierung des F-Allels zu beobachten. Während die insgesamt verringerte Variabilität auf länger zurückliegende Populationszusammenbrüche (eventuell am Ende der letzten Eiszeit) hindeutet, steht der Variationsverlust am Sod-1 Locus wahrscheinlich mit der Aussetzung und den dabei verursachten Foundereffekten in Zusammenhang.

Literatur

ARNOLD W. (1990a): The evolution of marmot sociality: I. Why disperse late? — Behav. Ecol. Sociobiol. **27**: 229-237.

ARNOLD W. (1990b): The evolution of marmot sociality: II. Costs and benefits of joint hibernation. — Behav. Ecol. Sociobiol. **27**: 239-246.

BRUNS U., HAIDEN A. & F. SUCHENTRUNK (1999): Allozyme variability in autochthonous colonies of Swiss Alpine Marmots (*Marmota m. marmota*): A confirmation of the "species-wide bottleneck hypothesis"? — Folia zool., Suppl., im Druck.

FERGUSON A. (1980): Biochemical systematics and evolution. – Glasgow und London, UK: Blackie.

NEVO E. (1978): Genetic variation in natural populations: patterns and theory. — Theor. Popul. Biol. **13**: 121-177.

O'BRIEN S.J., WILDT D.E. & M. BUSH (1986): The cheetah in genetic peril. — Sci. Am. **254**: 68-76.

PÄÄBO S., HIGUCHI R. & A.C. WILSON (1989): Ancient DNA and the polymerase chain reaction. — J. Biol. Chem. **264**: 9709-9712.

PRELEUTHNER M. (1993): Das Alpenmurmeltier (*Marmota m. marmota*, LINNÉ 1758): Verbreitungsgeschichte und genetische Variation in Österreich. — Dissertation Universität Wien.

PRELEUTHNER M. & W. PINSKER (1993): Depauperated gene pools in *Marmota m. marmota* are caused by an ancient bottle neck: electrophoretic analysis of 15 wild populations from Austria and Switzerland. — In: HARTL G.B. & J. MARKOWSKI: Ecological genetics in mammals I, Acta theriol. **38**, Suppl. 2: 121–139.

PRELEUTHNER M., PINSKER W., KRUCKENHAUSER L., MILLER W.J. & H. PROSL (1995): Alpine marmots in Austria. The present population structure as a result of the postglacial distribution history. – In: Hartl G.B. & J. MARKOWSKI, Ecological genetics in mammals II, Acta theriol. **40**, Suppl. 3: 87-100.

SANGER F., NICKLEN S. & A.R. COULSON (1977): DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **74**: 5463-5467.

SCHWARZ O.A. & K.B. ARMITAGE (1980): Genetic variation in social mammals: the marmot model. — Science **207**: 665-667.

WRIGHT J., TENNANT B.C. & B. MAY (1987): Genetic variation between woodchuck populations with high and low prevalence rates of woodchuck hepatitis virus infection. — Jour. Wildl. Dis. **23**: 186-191.

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

Anschriften der Verfasser:

Dr. Monika PRELEUTHNER

Konrad Lorenz-Institut für Vergleichende Verhaltensforschung

Österreichische Akademie der Wissenschaften

Savoyenstr. 1A

A-1160 Wien

Austria

e-mail:
m.preleuthner@klivv.oeaw.ac.at

Ao.Univ-Prof.

Dr. Wilhelm PINSKER

Institut für Medizinische Biologie, AG Allg. Genetik

Medizinische Fakultät der Universität Wien

Währingerstr.10

A-1090 Wien

Austria

e-mail:
Wilhelm.Pinsker@univie.ac.at